

PROGRAMA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA VOLUNTÁRIA – PICVOL

<p>ANÁLISE MICROBIOLÓGICA DA ALFACE CULTIVADA COM ÁGUA RESIDUÁRIA DOMÉSTICA</p>
--

Área de Conhecimento: Ciências Agrárias

Subárea de conhecimento: Engenharia Agrícola

Especialidade do conhecimento: Irrigação

Relatório Final

Período da bolsa: 08/2017 a 07/2018

Este projeto é desenvolvido com bolsa de iniciação científica voluntária

PICVOL

Orientador: Raimundo Gomes Filho

Autor: Débora Thalita Brito de Oliveira



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA

Sumário

1. Introdução	1
2. Objetivos	2
3. Metodologia	3
4. Resultados e discussões	8
5. Conclusões	10
6. Perspectivas	10
7. Referências bibliográficas	10
8. Outras atividades	12

1. Introdução

Devido ao aumento crescente da população mundial, associado ao sistema econômico capitalista, os recursos hídricos vêm sendo degradados cada vez mais. Embora situado em um país com disponibilidade de água per capita elevada, o nordeste brasileiro, situado em regiões áridas e semiáridas, possui longos períodos de estiagem com forte incidência solar, o que eleva a evaporação e reduz a quantidade de água acessível. Dessa forma, a água se mostra como um elemento limitante ao desenvolvimento nessa região.

A Agência Nacional de Águas - ANA (2013) cita, como fatores agravantes da degradação dos recursos hídricos, a produção agrícola com uso de agrotóxicos e irrigação; e o lançamento direto de efluente doméstico, responsáveis pela contaminação com *Coliformes termotolerantes* e outras bactérias nas águas.

Campos *et al.* (2015) declaram que a escassez de água em regiões áridas e semiáridas tem se tornado cada vez mais recorrente, principalmente em países em desenvolvimento e áreas rurais. Silva *et al.* (2014) afirmam que o uso da água residuária na agricultura se mostra como uma alternativa válida, uma vez que disponibiliza água necessária para o incremento da produção agrícola, além de reduzir as pressões de demanda nos mananciais.

A Resolução nº 121 de 2010, estabeleceu diretrizes e critérios para o reúso na modalidade agrícola e florestal e afirma que o reúso para fins agrícola/florestal não deve colocar o meio ambiente ou a saúde pública em risco (BRASIL, 2010).

De acordo com Organização Mundial de Saúde (2006), nas regiões que possuem condições precárias de saneamento e as águas residuárias não tratadas são amplamente utilizadas na agricultura, ocorre alta incidência de infecções por protozoários e vírus, além disso, vermes intestinais representam riscos de saúde.

Os alimentos irrigados, de modo especial, as hortaliças, são caracterizados por sua importância na alimentação e na saúde humana e o seu consumo tem crescido não

só pelo aumento da população, mas sobretudo pela tendência de mudança no hábito alimentar do consumidor (ALLYDICE-FRANCIS e BROWN, 2012).

A alface (*Lactuca sativa*) é originária de espécies silvestres, que em tempos atuais ainda são encontradas no sul europeu e Ásia Ocidental. É uma planta anual que pertence à família Asteraceae (Compositae ou Compostas) e é uma herbácea, possuindo, assim, caules flexíveis (não lenhosos); além disso, suas folhas podem ser lisas ou crespas, formando ou não uma “cabeça” (FILGUEIRA, 2007).

De acordo com Silva *et al.* (2011), a alface é importante fonte de sais minerais e vitaminas, além de ser a hortaliça folhosa mais consumida pelos brasileiros. Para este autor, ainda, essas características fazem dessa planta um alimento de extrema relevância para saúde humana.

O estado de Sergipe produz alface suficiente para atender o comércio local e o município de Itabaiana se destaca como maior produtor da hortaliça em Sergipe, sendo que sua localização geográfica central e a grande frota de caminhões da qual dispõe, facilita a distribuição da produção para cidades e até estados vizinhos (SILVA, 2011).

Nesse contexto, o objetivo do trabalho é observar os efeitos do efluente doméstico tratado na qualidade microbiológica das folhas de alface Baba de Verão (*Lactuca sativa*), verificando, ao final do experimento, a possibilidade da substituição da fonte de água de melhor qualidade por uma inferior sem que haja contaminação do material vegetal.

2. Objetivos

Geral:

Realizar a análise microbiológica da alface (*Lactuca sativa*) cultivada com efluente doméstico tratado e comparar o desenvolvimento desta cultura com a parcela irrigada com água potável oriunda da Companhia de Saneamento de Sergipe (DESO).

Específicos:

Avaliar o uso de diferentes concentrações de efluente doméstico tratado no desenvolvimento das folhas de alface, analisando Coliformes termotolerantes, *Salmonella* e *Staphylococcus aureus*;

Verificar a possibilidade da substituição da fonte de água de melhor qualidade por uma inferior sem que haja contaminação do material vegetal.

3. Metodologia

O experimento foi realizado em casa de vegetação, localizada no Departamento de Engenharia Agrônômica (DEA) da Universidade Federal de Sergipe (UFS), estabelecida no município de São Cristóvão, Região Nordeste do Brasil e posicionado no setor leste do estado de Sergipe (Figura 1).

Figura 1. Casa de vegetação onde foi realizado o cultivo da alface com efluente doméstico tratado

Para este estudo foi utilizada água de abastecimento da Companhia de Saneamento de Sergipe (DESO) e água residuária da Estação de Tratamento de Efluente

da Universidade Federal de Sergipe (ETE-UFS). Foi utilizado o esgoto do reator aeróbio, que é o segundo tanque da ETE-UFS (Figura 2).

Figura 2. Tanque aeróbico da Estação de tratamento de efluente da UFS



No presente estudo foi utilizada a cultura Alface variedade Baba de Verão (*Lactuca sativa*), pertencente ao grupo das Asteraceae. A semente utilizada foi da marca ISLA, que possui, de acordo com o fabricante, 98% de germinação e 99,8% de pureza. Realizou-se a semeadura em bandeja de 150 células, colocando cerca de 5 sementes em cada uma destas. A irrigação foi realizada duas vezes ao dia, em horários de temperatura mais amena como recomendado pela Embrapa (2007), sendo a primeira às 7h30min e a segunda 16h30min. A germinação ocorreu com aproximadamente quatro a cinco dias após a semeadura (Figura 3).

Figura 3. Alface em bandejas para transplântio

O transplântio ocorreu por volta de vinte dias após a semeadura, quando as mudas possuíam quatro folhas definitivas, como recomenda a literatura. Foram transplantadas em cada vaso três mudas da Alfaca Baba de Verão, e após estabilidade da cultura, que ocorreu depois de sete dias do transplântio, procedeu-se com o desbaste, deixando apenas a mais vigorosa por vaso, quando iniciou-se a diferenciação dos tratamentos. Durante os sete primeiros dias após transplântio só foi utilizada água de abastecimento em todas as parcelas.

A pesquisa foi concebida em delineamento em blocos casualizados (DBC). As parcelas foram constituídas de três diferentes porcentagens de água residuária com água de abastecimento proveniente da DESO, e três lâminas distintas para irrigação, gerando um fatorial de 3 x 3. A determinação da lâmina foi relacionada com a umidade na capacidade de campo do solo utilizado no experimento. Utilizaram-se cinco repetições de cada tratamento, totalizando dessa maneira 45 vasos, representados por cada círculo da Figura 4, e nove tratamentos distintos.

Figura 1. Esquema da montagem do experimento

Bloco 1	Bloco 2	Bloco 3	Bloco 4	Bloco 5
3 9 5	8 7 5	1 7 4	3 5 2	8 3 7
6 2 8	9 4 1	5 6 8	9 1 4	2 6 5
1 7 4	6 3 2	9 2 3	6 8 7	4 9 1

1 = 100% água e lâmina 100%; 2 = 100% água e lâmina 75%; 3 = 100% água e lâmina 125%; 4 = 50% água e lâmina 100%; 5 = 50% água e lâmina 75%; 6 = 50% água e lâmina 125%; 7 = 100% efluente e lâmina 100%; 8 = 100% efluente e lâmina 75%; e 9 = 100% efluente e lâmina 25%.

As lâminas de irrigação aplicadas foram correspondentes a 75% da umidade na capacidade de campo do solo (lâmina 1), 100% (lâmina 2) e 125% (lâmina 3).

O solo utilizado foi proveniente do Campus Rural da Universidade Federal de Sergipe, o qual é classificado como Argissolo Vermelho Amarelo, que se caracteriza como profundo a pouco profundo; moderadamente a bem drenado; textura muito variável, mas com predomínio de textura média na superfície, e argilosa, em subsuperfície; e apresenta porosidade total baixa a média (EMBRAPA, 2006). Foi realizada a análise química do solo, sendo constatada a necessidade de correção, realizando-se a calagem com a incorporação do calcário em todo o volume de solo do vaso, efetuando, em seguida, a saturação deste até ser observada a percolação da água. Esperou-se, um período de aproximadamente 90 dias, tempo necessário para que ocorresse a correção do pH e a fertilidade do solo.

Fez-se a adubação no momento de plantio em todos os vasos já a adubação de cobertura, nitrogenada, foi realizada nos vasos que possuíam concentrações de 100% de água de abastecimento.

A aplicação de água nos vasos foi realizada manualmente por meio de proveta graduada de 100 mL, evitando-se ao máximo o contato da Alface com o efluente.

Na Tabela 1 podem ser observadas as siglas e as respectivas descrições dos tratamentos que foram utilizadas.

Tabela 1. Descrição das siglas de cada tratamento

SIGLA	DESCRIÇÃO
E ₀ L ₁	100% de água de abastecimento; 75% da capacidade de campo
E ₀ L ₂	100% de água de abastecimento; 100% da capacidade de campo
E ₀ L ₃	100% de água de abastecimento; 125% da capacidade de campo
E ₁ L ₁	50% água de abastecimento + 50% efluente; 75% da capacidade de campo
E ₁ L ₂	50% água de abastecimento + 50% efluente; 100% da capacidade de campo
E ₁ L ₃	50% água de abastecimento + 50% efluente; 125% da capacidade de campo
E ₂ L ₁	100% de efluente; 75% da capacidade de campo
E ₂ L ₂	100% de efluente; 100% da capacidade de campo
E ₂ L ₃	100% de efluente; 125% da capacidade de campo

Para monitoramento da umidade, foram instalados nove tensiômetros, sendo um em cada tratamento, em vasos escolhidos aleatoriamente. A irrigação foi realizada quando a leitura do tensiômetro indicava que a umidade observada estava abaixo da umidade na capacidade de campo. Aplicava-se, então, a lâmina necessária para elevar esta umidade para a condição de umidade na capacidade de campo do tratamento analisado.

A faixa adotada para 100% da capacidade de campo (CC) foi 15 kPa e 35 kPa (umidade crítica do solo contabilizando a altura da coluna de água dentro do tensiômetro). Realizou-se uma relação para encontrar as faixas para 75 e 125% da CC, sendo adotadas 25,8 - 60,23 kPa e 9,84 - 22,97 kPa, respectivamente.

As folhas foram submetidas à análise microbiológica para observar se houve contaminação destas pelo efluente doméstico tratado utilizado para irrigação da cultura. Para isso, foi realizada uma análise composta de cada tratamento, sendo retirada de cada repetição de duas a quatro folhas. Deu-se preferência para as folhas mais próximas ao solo, já que essas são mais susceptíveis a contaminação. As variáveis analisadas foram *Coliformes termotolerantes* e *Salmonella*, parâmetros exigidos pela ANVISA para hortaliças de consumo “*in natura*”.

Para a determinação da qualidade microbiológica, as amostras foram analisadas de acordo ao disposto no Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods (DOWNES e ITO, 2001). A análise foi realizada no Laboratório do Instituto Tecnológico e de Pesquisas do Estado de Sergipe - ITPS.

4. Resultados e discussões

Na Tabela 2 podem ser observados os valores encontrados de *Coliformes termotolerantes* e *Salmonella* presentes na alface para cada tratamento no primeiro e segundo ciclo.

Tabela 2. Qualidade microbiológica da alface irrigada com efluente doméstico tratado durante dois ciclos de cultivo

	E ₀ L ₁	E ₀ L ₂	E ₀ L ₃	E ₁ L ₁	E ₁ L ₂	E ₁ L ₃	E ₂ L ₁	E ₂ L ₂	E ₂ L ₃
1º Ciclo									
<i>Coliformes termotolerantes</i> (NMP g ⁻¹)	< 3,0	< 3,0	< 3,0	9,3	9,3	9,3	9,3	3,6	9,2
<i>Salmonella</i> (em 25 g)	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente
2º Ciclo									
<i>Coliformes termotolerantes</i> (NMP.g ⁻¹)	< 3,0	< 3,0	< 3,0	2,3	3,0	3,5	9,2	< 3,0	< 3,0
<i>Salmonella</i> (em 25 g)	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente

Para verificar a qualidade microbiológica, seguiu-se o recomendado pela RDC nº 12/2001 da ANVISA, que permite, em hortaliças consumidas cruas, até 10² NMP.g⁻¹ para *Coliformes termotolerantes* a 45°, ou *Coliformes termotolerantes*; e exige ausência de *Salmonella*. De acordo com essa informação, constatou-se que em todos os tratamentos, nos dois ciclos, estão dentro do limite de condições sanitárias satisfatórias.

Urbano (2013) analisou as características sanitárias da alface do tipo Elisa irrigada com água residuária tratada em sistema de gotejamento. De forma semelhante, a autora encontrou valores dentro do permitido pela ANVISA.

Santos *et al.* (2010) investigaram cinco áreas de vegetação, que produziam para comercialização, com o intuito de verificar se existia contaminação por *coliformes termotolerantes* e *Salmonella*. Foram coletadas 140 amostras entre coentro, alface, hortelã e couve. Como resultado, observaram ausência de *Salmonella*, porém encontraram valores acima do permitido para *coliformes termotolerantes*, principalmente para a cultura de alface e coentro.

Carvalho *et al.* (2013) ao analisarem qualidade microbiológica do girassol, encontraram valores dentro do limite exigido pela legislação para as duas variáveis. Dantas *et al.* (2014) de forma semelhante, também verificaram níveis de *coliformes termotolerantes* e *Salmonella* dentro do limite estabelecido pela resolução, para a cultura de rabanete.

Juchen *et al.* (2013) analisaram a qualidade microbiológica da alface irrigada com águas residuárias agroindustriais e verificaram que os níveis de microorganismos nas alfaces ficaram com valores inferiores aos estabelecidos na Legislação Brasileira.

Silva *et al.* (2016) estudaram a qualidade da alface irrigada com águas provenientes de açudes da zona rural do município de Caruaru, no Agreste Pernambucano, e verificaram que as contagens de *coliformes* estavam acima do permitido pela legislação brasileira, resultados estes, piores que o obtido neste experimento com águas residuárias de efluentes domésticos tratados.

Varalho *et al.* (2011) avaliando a qualidade sanitária de alface fertirrigada com água residuária de origem doméstica, via gotejamento, obtiveram ausência de *coliformes termotolerantes* nas folhas.

Souza *et al.* (2013) avaliaram a qualidade microbiológica de frutos de pimentão produzidos com água residuária da suinocultura e verificaram que não foram contaminados por *coliformes termotolerantes* e *Salmonella spp.*, estando de acordo com os padrões microbiológicos sanitários exigidos pela Legislação Brasileira.

5. Conclusões

As análises microbiológicas constataram que as alfaces irrigadas com efluente estavam dentro dos limites permitidos pela RDC nº 12/2001 da ANVISA.

A irrigação com água residuária é uma opção válida, uma vez que mostrou suprir as necessidades hídricas e nutricionais da cultura da Alface *var.* Baba de Verão, além de estar dentro dos padrões exigidos pela legislação.

6. Perspectivas

Pretendo continuar trabalhando na mesma linha de pesquisa, aplicando outras metodologias e com outras culturas agrícolas.

7. Referências bibliográficas

ALLYDICE-FRANCIS, K.; BROWN, P. D. Diversity of antimicrobial resistance and virulence determinants in pseudomonas aeruginosa associated with fresh vegetables. **International Journal of Microbiology**, v. 2012, p. 1 -7. 2012.

ANA, Agência Nacional de Águas. *Conjuntura dos Recursos Hídricos no Brasil: 2013*. Brasília, DF, 2013.

BRASIL. Resolução nº 121, de 16 de dezembro de 2010. *Estabelece diretrizes e critérios para a prática de reúso direto não potável de água na modalidade agrícola e florestal, definida na Resolução CNRH nº 54, de 28 de novembro de 2005*. Brasília, DF, 16 de dezembro de 2010.

CAMPOS, A. R, F; SZEKUT, F. D.; KLEIN, M. R.; RIBEIRO, M. D. Aplicação de efluente de esgoto tratado aplicado na agricultura. *In: Inovagri Internacional Meeting*. Fortaleza. Anais. 2015.

CARVALHO, R. S. de; SANTOS FILHO, J. S. dos; SANTANA, L. O. G. de; GOMES, D. A.; MENDONÇA, L. C.; FACCIOLI, G. G. Influência do reúso de águas residuárias na qualidade microbiológica do girassol destinado à alimentação animal. *Revista Ambiente & Água*, v. 8, n. 2, p. 157-167. 2013

DANTAS, I. L. de A.; FACCIOLI, G. G.; MENDONÇA, L. C.; NUNES, T. P.; VIEGAS, P. R. A.; SANTANA, L. O. G de. Viabilidade do uso de água residuárias tratada na irrigação da cultura do rabanete (*Raphanus sativa* L.). **Revista Ambiente & Água**, v. 9, n. 1, p. 109-117, 2014.

DOWNES, F.P.; ITO, K. Compendium of methods for the microbiological examination of foods. 4.ed. Washington: American Public Health Association, 2001. 687p.

EMBRAPA - EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. **Cultivo do Arroz de Terras Altas no Estado de Mato Grosso**. 2006. Disponível em: <<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Arroz/ArrozTerrasAltasMatoGrosso/solos.htm#ava>> Acesso em 05 de novembro de 2015.

EMBRAPA - EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. Pimenta (*Capsicum* spp.). 2007. Disponível em: <http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Pimenta/Pimenta_capsicum_spp/botanica.html> Acesso em 06 de novembro de 2015.

FILGUEIRA, F. A. R. *Novo manual de olericultura: agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças*. 3ª ed. Viçosa: UFV, 421 p. 2007.

JUCHEN, C. R.; SUSZEK, F. L.; VILAS BOAS, M. A. Irrigação por gotejamento para produção de alface fertirrigada com águas residuárias agroindustriais. *Irriga*, v. 18, n. 1, p. 243-256, 2013.

SANTOS, Y. O.; ALMEIDA, R. C. de C.; GUIMARÃES, A. G.; ALMEIDA, P. F. Hygienic-sanitary quality of vegetables and evaluation of treatments for the elimination of indigenous *E. coli* and *E. coli* O157:H7 from the surface of leaves of lettuce (*Lactuca sativa* L.). *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 30, n. 4, p.1083-1089, 2010.

SILVA, A. F. S.; LIMA, C. A. de; QUEIROZ, J. J. F.; JÁCOME, P. R. L. de A.; JÁCOME JUNIOR, A. T. Análise bacteriológica das águas de irrigação de horticulturas. *Revista Ambiente e Água*, v. 11, n. 2, p. 428 – 438, 2016.

SILVA, E. M. N. C. P; FERREIRA, R. L. F.; ARAÚJO NETO, S. E.; TAVELLA, L. B.; SOLINO, A. J. S. Qualidade de alface crespa cultivada em sistema orgânico, convencional e hidropônico. **Horticultura Brasileira**, v. 29, n. 2, p.242-245, 2011.

SILVA, S. A. **Caracterização da produção de alface e seleção de genótipos adaptados no município de Itabaiana, Sergipe**. 58f. Dissertação (Mestrado em Agroecossistemas). Universidade Federal de Sergipe, São Cristovão, 2011.

SILVA, V. F.; NASCIMENTO, E.C.S.; ANDRADE, L.O.; BARACUHY, J.G.V; LIMA, V.L.A. Efeito do substrato bovino na germinação de pimenta biquinho (*Capsicum chinense*) irrigado com água residuária. **Revista Monografias Ambientais – REMOA**, v. 13, n. 5, p. 3865-3871, 2014.

SOUZA, J. A. R.; MOREIRA, D. A.; MARTINS, I. P.; CARVALHO, C. V. M.; CARVALHO, W. B. Sanidade de frutos de pimentão fertirrigados com água residuária da suinocultura. *Revista Ambiente & Água*, v. 8, n.2, p. 124-134, 2013.

URBANO, V. R. *Aplicação de água de reúso tratada no cultivo de alface (Lactuca sativa L.)*. 2013. 87 f. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal de São Carlos.

8. Outras atividades

Publicação do artigo ESTIMATE OF THE REFERENCE EVAPOTRANSPIRATION OF THE POÇO VERDE REGION na Revista Brasileira de Agricultura Irrigada, v.11, nº.5, p. 1714 - 1722, 2017. ISSN 1982-7679 (On-line); Fortaleza, CE, INOVAGRI – <http://www.inovagri.org.br>; DOI: 10.7127/rbai.v11n500764; Protocolo 764.17 – 23/05/2017; Aprovado em 31/08/2017.

Publicação do artigo “ESTIMATIVA DA EVAPOTRANSPIRAÇÃO DE REFERÊNCIA DO ESTADO DE SERGIPE” na Revista Scientia Plena, v.13, nº 11. www.scientiaplenu.org.br. DOI: 10.14808/sci.plena.2017.109912; Recebido em 19 de junho de 2017; aceito em 30 de setembro de 2017.

Participação no XI Encontro de Recursos Hídricos em Sergipe, realizado em Aracaju em abril de 2018.

Participação no V Workshop Internacional de Inovações Tecnológicas na Irrigação, realizado em Sobral, Ceará, no período de 23 a 25 de maio de 2018, apresentando o artigo intitulado “VELOCIDADE DE INFILTRAÇÃO BÁSICA DA ÁGUA SOB DIFERENTES USOS DO SOLO”.